

Recebido em 27 de Dezembro de 1973

Composés du Phosphore dans le grain du blé des cultivars les plus répandus au Portugal

par

L. A. VALENTE ALMEIDA

(Professeur de la chaire de Chimie Agricole)

et

J. SANTOS OLIVEIRA

(Professeur agrégé)

1. INTRODUCTION

Parmi les éléments majeurs indispensables aux plantes, le Phosphore occupe une position importante, en raison de ses multiples et complexes interventions dans le métabolisme cellulaire.

L'absorption se fait sous forme oxydée et il n'y a pas de réduction postérieure tandis qu'on le vérifie avec l'Azote ou le Soufre. On trouve le Phosphore dans des composés organiques et inorganiques, mais toujours sous forme d'ion phosphate.

Les composés du Phosphore dans la plante peuvent être classés en trois groupes:

- a) Composés solubles dans des solvants organiques;
- b) Composés solubles en Acide perchlorique (ou, selon d'autres auteurs, en Acide trichloro-acétique);
- c) Composés insolubles dans les solvants antérieurs.

Dans le premier de ces groupes, on trouve les Phospholipides, qui sont d'ailleurs les composés du Phosphore du grain de blé les mieux connus.

Les composés solubles en Acide perchlorique (PCA) comprennent les Phosphates minéraux, les Phytates et d'autres Ésters, notamment les hexoses mono-et diphosphatés, l'Acide phosphoglycérique, l'ADP, l'ATP et d'autres nucléotides mono, di et triphosphatés.

Parmi les composés insolubles dans les solvants antérieurs, on trouve les acides nucléiques, RNA et DNA, et les phosphoprotéines non nucléiques.

La connaissance des quantités et des proportions relatives de tous ces composés du Phosphore est importante, soit du point de vue agronomique et nutritionnel, soit du point de vue technologique. Cela justifie ce travail, où l'on a essayé de déterminer la composition dans ces composés phosphatés du grain de blé des cultivars les plus répandus au Portugal et recommandés par la «Federação Nacional dos Produtores de Trigo» (actuellement intégrée à l'«Instituto dos Cereais»).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. MATÉRIEL

Les échantillons analysés, au nombre de 19, correspondent à des cultivars de blé, contrôlés par la Station d'Essai de Semis.

Les cultivars étudiés peuvent être classés de la façon suivante:

Blés tendres mutiques	7
Blés tendres aristés	8
Blés durs aristés	4

On doit signaler au sujet de ces cultivars que 10 sont d'origine portugaise, trois étant des variétés régionales et les restants sept étant produits dans la Station d'Amélioration des Plantes, à Elvas.

2.2. MÉTHODES

Les schémas qui ont été proposés pour le fractionnement chimique des composés du Phosphore sont nombreux et variés. La plupart de

TABLEAU 1

Caractéristiques du matériel analysé

Cultivar	Origine	Généalogie
Blés tendres mutiques		
Autonomia	Italie	Hybride 'Frassineto 405' × 'Mentana'
Campodoro	Italie	Selection genealogique de formes disjointives de la variété 'Mara'
Chalmitte	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Lusitano' × 'Saitoma 27'
Etoile de Choisy	France, I. N. R. A.	Hybride ('Mon Désir' × 'Ardito') × ('Mouton à épi roux' × K ₃) × 'Mouton à épi roux'
Impeto	Italie	Hybride 'Frassineto 405' × 'Vila Gori'
Lusitano	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Mentana 11582' × 'A24/585'
Mara	Italie	Hybride 'Autonomia' × 'Aquila'
Blés tendres aristés		
Da Mala	Portugal	Cultivar régional
Galego barbado	Portugal	Cultivar régional
Mexicano 1481	Mélique	Hybride 'Nor 10' × 'P 14'
Mucaba	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Ardito' × 'Preto Amarelo'
Nazareno Strampelli	Italie	Hybride 'Libero' × ('S Pastore' × 'Jacometti 49')
Pirana	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Mentana' × 'Mocho de espiga branca'
Rural	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Ideal' × 'Mentana branco'
Siete Cerros	Mélique	Hybride 'Penjamo Sib' × 'Cabo 55'
Blés durs aristés		
Amarelejo	Portugal, E. M. P.	Hybride 'Preto Amarelo' × 'Alexandre'
Capelli	Italie	Hybride 'Capelli' × 'Eiti'
Lobello	Portugal	Cultivar régional
Preto amarelo	Portugal	Cultivar régional

ces schémas suivent la classification générale déjà présentée, mais ils varient beaucoup dans les détails analytiques.

Pour la séparation de la fraction lipidique ont été employés les solvants usuels des Lipides, notamment l'Éthanol, le Méthanol, le Chloroforme, l'Éther sulfurique et l'Éther de pétrole, soit isolés, soit sous forme de mélanges aux compositions variées, soit encore par des extractions successives avec quelques uns des solvants antérieurs.

La solution adoptée a été celle indiquée par HALL et HODGES (7) qui ont utilisé le mélange Éthanol + Éther sulfurique + Chloroforme (2:2:1), en volume) à la température ambiante. Cette solution présente l'avantage d'être constituée par les solvants les plus utilisés, tout en effectuant une extraction satisfaisante.

Les Phospholipides après extraction ont été fractionnés en Lécithines et Céphalines, selon la procédé de WELCH (14), basé sur la solubilité des Lécithines dans l'Éthanol absolu, où les Céphalines sont insolubles.

L'isolement de la fraction soluble en acide présent dans le résidu a été effectué, comme récemment par la plupart des auteurs, à l'aide d'Acide perchlorique 0,2 N (PCA 0,2 N), (LEE et col. (9); Hall et HODGES (7). L'utilisation de l'Acide trichloroacétique semble préférable quand on recherche le fractionnement simultané des composés phosphatés et azotés.

Dans l'extrait acide obtenu ont été déterminés les Phosphates inorganiques, les Phytates et les Phosphates organiques restants.

Les Phosphates inorganiques ont été déterminés directement dans l'extrait. Le dosage des Phytates a été effectué selon la technique proposée par MIHAILOVIC et col. (10), basée sur la précipitation de ces composés par le chlorure ferrique, en milieu chlorhydrique. Les autres Phosphates organiques ont été calculés par différence, entre le total de Phosphore dans l'extrait acide et la somme du Phosphore des Phosphates inorganiques et des Phytates.

Pour le fractionnement des composés phosphatés insolubles dans les solvants antérieurs, on a suivi la technique de LEE et al. (9). Celle-ci est basée sur un traitement préalable du résidu par incubation à 37°C avec une solution diluée de KOH, afin d'hydrolyser le RNA, mais non le DNA. L'hydrolyse n'est pas totale et il y a donc nécessité de traiter le résidu avec une solution de PCA 0,5 N, à 4°C.

Sur l'ensemble des surnageants des deux extractions on détermine le Phosphore correspondant au RNA.

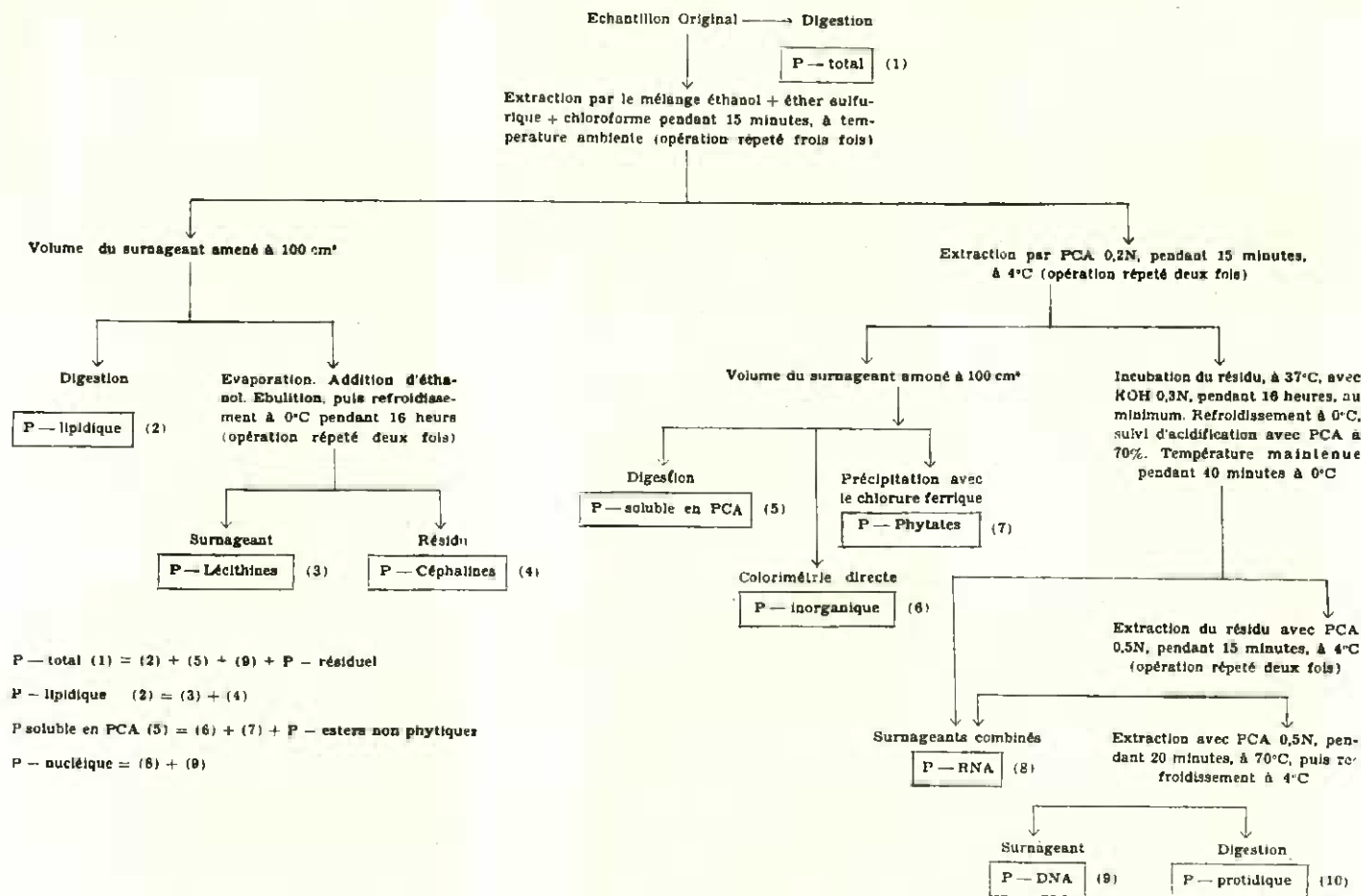


TABLEAU 2

Grain de blé — Détermination, en % de P-total, des diverses fractions

Cultivar	Humidité %	P-total mg/100 g mat. sèche	P-lipidique			P-soluble dans HCl0, 0,2N				P-nucléique			P protidique	P résiduel
			Total	Lécithine	Céphaline	Total	Phytique	Inorganique	Autres esters	Total	RNA	DNA		
Blés tendres mutiques														
Autonomia	14,48	293	2,0	1,7	0,3	68,9	18,4	7,2	43,3	21,1	17,7	3,4	7,5	0,5
Campodoro	14,49	322	2,2	1,2	1,0	59,3	16,8	6,5	36,0	31,7	28,6	3,1	6,5	0,3
Chaimite	14,45	316	1,6	1,3	0,3	66,5	31,0	8,9	26,6	25,0	21,8	3,2	6,9	0,0
Étoile de Choisy	14,64	286	1,4	1,0	0,4	70,3	34,6	9,8	25,9	17,1	14,7	2,4	11,2	0,0
Impeto	14,30	382	1,3	1,0	0,3	65,4	33,5	8,1	23,8	25,9	23,6	2,3	7,3	0,1
Lusitano	14,44	367	1,1	1,8	0,3	58,9	32,2	8,4	18,3	29,4	26,4	3,0	10,6	0,0
Mara	14,54	368	1,1	1,8	0,3	72,3	27,2	9,2	35,9	20,9	20,1	0,8	5,7	0,0
Moyenne	—	333	1,5	1,1	0,4	65,9	27,7	8,3	29,9	24,4	21,8	2,6	8,0	0,2
Blés tendres aristés ...														
Da Maia	14,60	414	1,2	1,0	0,2	69,1	19,3	7,5	42,3	28,0	27,3	0,7	1,7	0,0
Galego barbado	14,16	356	2,5	2,0	0,5	68,5	28,1	6,7	33,7	23,3	21,3	2,0	5,6	0,1
Mexicano 1481	14,24	332	0,9	0,6	0,4	59,0	27,1	6,6	25,3	25,0	23,5	1,5	15,1	0,0
Mucaba	14,05	342	1,5	1,2	0,3	68,7	19,0	8,8	40,9	19,9	18,7	1,2	9,9	0,0
Nazareno Strampelli...	14,24	286	1,7	1,4	0,3	66,4	35,0	8,0	23,4	19,6	18,2	1,4	12,2	0,1
Pirana	14,23	351	0,9	0,5	0,4	75,5	33,6	8,3	33,6	15,4	14,2	1,2	8,0	0,2
Rural	14,26	351	4,3	3,1	1,2	65,5	32,5	7,7	25,3	21,4	19,7	1,7	8,5	0,3
Siete Cerros	14,14	336	1,5	1,2	0,3	56,8	23,5	6,5	26,8	33,6	32,4	1,2	7,5	0,6
Moyenne	—	346	1,8	1,4	0,4	66,2	27,3	7,5	31,4	23,3	21,9	1,4	8,6	0,1
Blés durs aristés														
Amarelejo	14,22	408	1,0	0,7	0,3	65,4	25,5	7,1	32,8	22,8	21,8	1,0	10,8	0,0
Capeiti	13,70	351	1,4	0,9	0,5	69,2	15,4	5,4	48,4	25,6	22,8	2,8	3,7	0,1
Lobeiro	13,33	392	1,0	0,6	0,4	70,4	22,7	8,2	39,5	24,0	22,7	1,3	4,6	0,0
Preto amarelo.....	13,96	353	1,4	1,1	0,3	66,6	25,2	6,8	34,6	22,4	21,2	1,2	9,6	0,0
Moyenne	—	376	1,2	0,8	0,4	67,9	22,2	6,9	38,8	23,7	22,4	1,3	7,2	0,0
Total des cultivars ...	—	348	1,6	1,2	0,4	66,5	26,4	7,7	32,4	23,8	21,9	1,9	8,0	0,1

Le DNA est à son tour hydrolysée dans le résidu avec la solution de PCA 0,5 N, à 70°C. On admet que le Phosphore présent dans le résidu de cette extraction appartient à des Phosphoprotéines non nucléiques.

Dans le schéma 1 on indique la marche analytique suivie. En plus des formes de Phosphates indiquées on a déterminé aussi le Phosphore total.

La détermination de l'ion Phosphate a été toujours effectuée en spectrophotométrie par la méthode du Vanado-molybdate d'ammonium.

Toutes les analyses ont été faites dans la farine obtenue par mouture du grain et tamisage à travers un tamis de 60 mailles par pouce carré. Dans cette farine on a aussi déterminé l'humidité par séchage à la température de 100-103°C, pendant quatre heures.

3. DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les résultats obtenus sont groupés dans le Tableau n.° 2. On y trouve le pourcentage en humidité du grain, la teneur en P-total exprimée en mg/100 g de matière sèche et les teneurs dans les fractions, déterminées en pourcentage du P-total. On présente aussi les valeurs moyennes de ces pourcentages, selon il s'agit de cultivars de Blé tendre, mutique ou aristé, ou encore de Blé dur aristé.

Le teneur en P-total est plus grande dans les Blés durs aristés que dans les autres cultivars. Ce résultat est conforme à ceux obtenus par d'autres auteurs, et explique l'aptitude supérieure de ce type de blé pour la panification, étant donné que cette aptitude est corrélée positivement avec la teneur de la farine en P-total (1;13).

La teneur plus élevée des cultivars de Blé tendre aristé par rapport à celles de Blé tendre mutique peut être expliquée en raison de la plus grande durée de la période photosynthétique dans les premiers, due à la contribution des aristes, au moment où le reste de la plante présente déjà une teneur en humidité qui empêche l'activité assimilatrice.

Cette situation est cependant atténuée du fait que les Blés tendres mutiques présentent une teneur en Phospholipides supérieure aux autres cultivars. Or, ces composés ont un intérêt technologique certain, par leur influence sur la qualité de la farine (8). En effet, COLE et col. (4), parmi d'autres auteurs, ont vérifié l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en Phospholipides d'une farine et

ses caractéristiques pour la panification, possiblement à cause de la formation de liaisons moléculaires entre ces composés et les protéines du gluten, pendant la préparation de la pâte. Il faut remarquer que les variations observées sont dues à la variation de la teneur en Lecithines, tandis que la proportion relative des Céphalines reste, elle, à peu près constante.

Le Phosphore soluble en acide présente une distribution selon les types de blés qui est semblable à celle du P-total, les valeurs les plus élevées correspondant aux Blés durs et les valeurs les plus faibles aux Blés tendres mutiques.

Cette fraction est, d'ailleurs, corrélationnée de façon significative avec le volume du pain obtenu de cette farine, selon WATSON et col. (13).

Le P-inorganique se distribue le façon inversée, avec un maximum pour les Blés tendres mutiques.

Le pourcentage de P-phytique se distribue de façon similaire mais on ne connaît pas les conditions de production et de conservation des semis étudiés et on ne peut donc pas interpréter les différences vérifiées (12), (16). Cependant, et en raison du possible caractère déminéralisant des phytates dans l'organisme, il faut remarquer la teneur plus élevée des cultivars de blé tendre mutique.

Les Phytates ont, dans la plante, d'importantes fonctions physiologiques et fonctionnent en «pool» donneur par rapport aux phosphates inorganiques, qu'ils produisent lors de l'hydrolyse. Il est donc compréhensible que la distribution du P-phytates soit analogue à la distribution du P-inorganique.

Les esters phosphatés glucidiques non phytiques représentent la majeure partie de la fraction résiduelle des composés solubles dans les acides, et leur distribution est parallèle à celle du total des composés du phosphore solubles dans le PCA. Les différences entre les divers types de cultivars de blés sont augmentées à cause de la distribution inverse des fractions phytiques et inorganique. Ainsi, par rapport au P-total et au P-acido-soluble, WATSON et col. (13) ont vérifié aussi des corrélations positives entre la qualité de la farine et la teneur en esters phosphatés non phytiques.

Les variations entre les divers types de blés, en ce qui concerne le P-nucléique, ne sont pas très importantes, mais on vérifie une supériorité des blés tendres mutiques, à cause de la teneur plus élevée en P-DNA.

MIHAILOVIC et col. (11) ont vérifié, sur des blés cultivés en Yougoslavie, l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en DNA et le pourcentage de gluten du blé.

Dans son étude sur les composés du Phosphore dans le grain de blé, BOURDET et FEILLET (3) ont vérifié également que les blés tendres présentaient une teneur en DNA, par rapport au total des acides nucléiques, qui était plus élevée que dans les blés durs. Ces valeurs ne sont pas comparables directement avec celles du Tableau 3, étant donné que ces dernières ont été obtenues sur des farines dont le degré d'extraction était d'à peu près 70 % et ceux-ci sont valables pour la farine intégrale. Néanmoins l'évolution des valeurs est voisine:

P - DNA par rapport au P - nucléique

	BOURDET et FEILLET	Blés portugais
Blés tendres		
mutiques	15,7 %	10,7 %
aristés	12,7 %	6,0 %
Blés durs	11,2 %	5,5 %

La fraction protidique des composés du Phosphore ne varie pas nettement selon les types de blés analysés.

La tendance est pourtant d'une teneur plus élevée dans les blés tendres aristés et d'un pourcentage plus faible dans les blés durs.

La valeur du P - résiduel est, dans tous les cas, très faible.

On peut donc conclure qu'il y a, parmi les cultivars de blés les plus répandus au Portugal, des variations sensibles dans les teneurs des divers composés du Phosphore déterminés et que cette variation est d'accord avec les données de la technologie et avec des corrélations vérifiées par ailleurs sur un matériel similaire.

RESUME

Dans ce travail on a déterminé, pour les variétés de Blé les plus répandues au Portugal et officiellement recommandées, les teneurs dans les divers composés du Phosphore, étant donné son importance, soit

du point de vue agronomique et nutritionnel, soit du point de vue technologique.

D'après le fractionnement on a déterminé la teneur en Phosphore correspondante aux composés suivants:

- a) Phospholipides et, dans cet ensemble les Lécithines et les Céphalines.
- b) Composés phosphatés solubles en Acide perchlorique 0,2 N, comprenant les Phosphates inorganiques, les Phytates et d'autres Phosphates organiques.
- c) Acides nucleiques: RNA et DNA.
- d) Phosphoprotéines.

Les valeurs obtenus ont été discutés selon l'origine botanique des cultivares, et selon la signification technologique des différences observées.

SYNOPSIS

Phosphorus compounds on wheat grain, from varieties the most cultivated in Portugal

In this paper AA present data on the content of Phosphorus compounds of wheat grain, for the varieties the most cultivated in Portugal and officially recommended and certified.

According to the fractionation scheme adopted it had been determined P - content of following compounds:

- a) Phospholipids, subdivided in Lecithins and Cephalins.
- b) Phosphorus compounds solubles in Perchloric acid 0,2 N, including inorganic Phosphates, Phytates, and other organic Phosphates.
- c) Nucleic acids: RNA and DNA.
- d) Phosphoproteins.

Values obtained are discussed according to the botanical origin of cultivars and to the technological meaning of observed differences.

RESUMO

Compostos fosfatados do grão de trigo das cultivares mais vulgares em Portugal

Neste trabalho determinaram-se, para as variedades de trigo mais cultivadas em Portugal, e oficialmente recomendadas, os teores nos diversos compostos fosfatados, dada a sua importância, quer do ponto de vista agronómico, quer do ponto de vista tecnológico.

De acordo com o fraccionamento efectuado determinaram-se os teores em Fósforo correspondentes aos seguintes compostos:

- a) Fosfolípidos e, dentre estes, as Lecitinas e as Cefalinas.
- b) Compostos fosfatados solúveis em Ácido perclórico 0,2 N, compreendendo os Fosfatos inorgânicos, os Fitatos e outros Fosfatos orgânicos.
- c) Ácidos nucleicos: RNA e DNA.
- d) Fosfoproteínas.

Os valores obtidos foram discutidos de acordo com a origem botânica das cultivares e o significado tecnológico das diferenças observadas.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — BEQUETTE, R. K. et al. — *Mineral composition of gluten, starch, and water-soluble fractions of wheat flour and its relationship to flour quality.* «Agron. J.» 55, 1963, p. 537-542.
- 2 — BIELESKI, R. L. — *Levels of phosphate esters in Spirodela*, «Plant Physiol.», Kutatown, 43 (8), 1968, p. 1297-1308.
- 3 — BOURDET, A.; FEILLET, P. — *Distribution of Phosphorus compounds in the protein fractions of various types of wheat flours.* «Cereal Chemistry», vol. 44, 1967, p. 457-482.
- 4 — COLE, E. W. et al. — *Effect of flour lipids and some lipid derivatives on cookie — baking characteristics of lipid-free flours.* Cereal Chem. 37, 1960, p. 109-121.
- 5 — GARZ, J. von — *Zur Kenntnis der Phosphaternährung der Luzerne.* «Z. Pflanzenernähr. Düng., Bodenkunde», 79 (124), 1957, p. 213-232.

- 6 — GUINN, G. — *Changes in sugars, starch, RNA, protein and lipid-soluble Phosphate in leaves of cotton plants at low temperatures.* «Crop Science», Madison, 11 (2), 1971, p. 262-265.
- 7 — HALL, J. R.; HODGES, T. K. — *Phosphorus metabolism of germinating oat seeds.* «Plant Physiol.», Kutatown, 41 (9), 1966, p. 1459-1464.
- 8 — HOUSTON, D. F. — *The phospholipids of wheat flour.* Cereal Sci. Today 6, 1961, p. 288.
- 9 — LEE, K. W.; CALDWELL, A. C.; CLAPP, C. E. — *RNA, DNA and other phosphorus fractions in soybeans as affected by high phosphorus nutrition.* «Plant and Soil», Groningen, 25 (3), 1966, p. 406-412.
- 10 — MIHAILOVIC, M. L. et al. — *Chemical investigations of Weath, 2. — Dynamics of various forms of Phosphorus in wheat grain. II. Phytate Phosphorus.* «Bull. Chem. Society», Belgrado, 27 (2-3), 1962, p. 135-152.
- 11 — MIHAILOVIC, M. L. et al. — *Chemical investigations of wheat. 3. Dynamics of various forms of phosphorus in wheat during its ontogenesis. Ribonucleic acid in ripe grain of different varieties of wheat.* «Bull. Chem. Society», Belgrado, 27 (4), 1962, p. 41-52.
- 12 — MIHAILOVIC, M. L.; ANTIC, M.; HADZIJEV, D. — *Chemical investigations of wheat. 8. Dynamics of various forms of phosphorus in wheat during its ontogenesis. The extend and mechanism of phytic acid decomposition in germinating wheat grain.* «Plant and Soil», Groningen, 23 (1), 1965, p. 117-128.
- 13 — WATSON, C. A. et al. — *Relationship of types of phosphorus in wheat flour and gluten to flour quality.* Agron. J. 55, 1963, p. 526-528.
- 14 — WELCH, E. A. — *The fractionation of lecithins and cephalins.* «J. Biol. Chem.», Baltimore, 161 (1), 1945, p. 65-69.
- 15 — WENZEL, V. W. — *Der einfluss der versorgung der pflanzen mit phosphorsäure auf ihren Gehalt an P-haltigen verbindungen.* «Z. für Pflanzenernährung Düngung Bodenkund» Weinheim, 79 (124), 1957, p. 247-260.
- 16 — WILLIAMS, S. G. — *The role of phytic acid in the wheat grain.* «Plant Physiol.», Kutztown, 45 (4), 1970, p. 376-381.